



TITLE:

泌尿性器疾患に於ける  
Phosphataseの組織化学的研究 第  
1篇:Phosphataseの組織化学に關す  
る基礎的研究と文献的考察

AUTHOR(S):

三浦, 武芳

---

CITATION:

三浦, 武芳. 泌尿性器疾患に於けるPhosphataseの組織化学的研究 第1篇  
:Phosphataseの組織化学に關する基礎的研究と文献的考察. 泌尿器科  
紀要 1957, 3(1): 30-34

ISSUE DATE:

1957-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/111401>

RIGHT:

## 泌尿性器疾患に於ける Phosphatase の組織化学的研究

## 第 I 篇 Phosphatase の組織化学に関する基礎的研究と文献的考察

京都大学医学部泌尿器科教室（主任 稲田 務教授）

研究生 三 浦 武 芳

Histochemical Studies on Phosphatase  
in Genito-Urinary Diseases

## Report I : The Fundamental Study and The Literary Investigation

Takeyoshi MIURA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Director: Prof. T. Inada)*

First I had made the fundamental studies on the following circumstances, before the histochemical studies on phosphatase in various diseases of genito-urinary organs.

- 1) Universal circumstances on phosphatase
- 2) Methods for histochemical demonstration of phosphatase
- 3) Distribution of phosphatase in the normal genito-urinary organs
- 4) Physiological significance of phosphatase in the genito-urinary system
- 5) The all sorts of literary investigation

Phosphatase was especially so many included in the genito-urinary organs and by its distribution, various important physiological significances could be supposed. Therefore it seems to be very interesting subjects that we search the histochemical findings of that enzyme in various diseases.

## I 緒 言

晩近の組織化学の発展に伴い諸種の無機、有機の物質が組織学的乃至細胞学的単位に於て探求され、且それらの意義が追求されつつある。殊に、生体の種々の重要な機能に關与する酵素の組織化学的研究は機能的病理学とも謂うべき領域として隆盛の勢を示しつつある。

著者は今回泌尿性器の各種疾患に就て、その病変局所の Phosphatase を組織化学的に検索した。その成績は続編で発表する予定であるが、先ず本編ではその基礎的研究として、Phosphatase に就ての一般的要項とその組織

化学的研究方法及び正常泌尿性器に於ける所見とその生理学的意義等に関して種々の文献的考察を試みた。本検索に当つては本学結核研究所高松英雄博士に負うところ多大である。

## II Phosphatase の一般的要項

Phosphatase は周知の如く多種の磷酸エステルより磷酸を游離せしめる一種の加水分解酵素即ち Esterase で、その作用する溶媒の至適水素イオン濃度により、アルカリ性 Phosphatase (PH 9 附近) と酸性 Phosphatase (PH 5 附近) とに大別せられ、又その作用基質により別表の如く分類せられている。

## Phosphatase の分類

| 酵 素 名  | 酵素作用 (Rは有機性の基を示す)  | 基 質 の 例                            |
|--|--|------------------------------------|
| 1) Phosphomonoesterase   | $R-O-H_2PO_3 + H_2O \rightarrow ROH + H_3PO_4$             | グリセロ 磷酸<br>フェニール 磷酸<br>メチール 磷酸     |
| 2) Phosphodiesterase   | $R'-O-HPO_2-O-R'' + H_2O \rightarrow R'OH + H_2PO_3-O-R''$ | デグリセリン 磷酸<br>デフェニール 磷酸<br>デエチール 磷酸 |
| 3) Pyrophosphatase   | $H_2O_3P-O-PO_3H_2 + H_2O \rightarrow H_3PO_4 + H_3PO_4$   | ピロ 磷酸 ソーダ<br>デフェニールピロ 磷酸           |
| 4) Metaphosphatase   | $HPO_3 + H_2O \rightarrow H_3PO_4$                         | メ タ 磷酸 塩                           |
| 5) Phosphoamidase  | $RNH-PO_3H_2 + H_2O \rightarrow RNH_2 + H_3PO_4$           | フォ ス フォ クレアチン                      |
| 6) その他特殊なものとして Phytase Cholinphosphatase Adenylpyrophosphatase 等がある。 |  |                                    |

Phosphatase の発見以来、その生物学的意義に関して種々追究せられて、該酵素が生体の種々の新陳代謝過程、即ち筋肉収縮、骨形成、糖の分解吸収、細尿管よりの再吸収等の重要な機能に關与するものとせられている。

### III Phosphatase の組織化学的研究方法

本酵素の生化学的測定法は、酵素作用によりそれぞれの基質から游離する磷酸の定量に基礎をおくものが古くから実施せられ、血清、尿、組織浸出液等に就て Bodansky 氏法 (1933)、King-Armstrong 氏法 (1934)、Shinowara, Johnes, Reinhart 氏法 (1942)、等の諸法がある。是等の生化学的測定法をもつては該酵素の組織細胞内に於ける分布を詳かにすることはできない。1938年高松博士によりはじめて組織化学的証明法が発明せられ、続いて翌1939年 Gomori が略々同一の方法を発表して以来該酵素の組織化学的研究が多方面で行われるようになった。

高松氏法の原理は、Phosphatase によつて游離した磷酸をカルシウムと結合せしめ、その作用部位に沈着するのを待つてその反応産物即ち磷酸カルシウムを Kossa の方法の応用により顕微鏡的に見得るようになることである。

高松及び Gomori 氏の考案以来 Phosphatase の組織化学的証明法に多くの改良が加えられてきた。それは高松氏原法の如く、沈着した磷酸カルシウムを Kossa 氏法により還元する方法或いは又 Gomori 氏原法の如く、硝酸コバルト液に入れて磷酸コバルトとなし且硫化物として見る方法は、色彩が黄褐色乃至黒色系で、本来組織内にある他の色素とまぎらわしいことがあり、又目的物以外のものが非特異的に着色することがあり得るので結果を誤ることがある。又所謂賦活剤又は抑制剤による Phosphatase の作用に就て

は既に生化学的に種々研究されているが、組織化学的にはアルカリ性 Phosphatase の賦活剤であるマグネシウムの添加は別種の意味がある。

Gomori 氏改良法 (1941)、Dempsey 氏法 (1946) Moog 氏法 (1952)、Goetsch 氏法 (1952)、前田氏法 (1949)、高松・小沢氏法 (1952) 等々それぞれに特徴はあるが、すべてその過程に於て硫化するので結果は陽性部位が黒褐色系となり、又色調は黒くないが Bourne 氏法 (1943) は反応の鋭敏性が少なく Junge, Menten, Green 氏法 (1944) Manheimer, Seligman 氏法 (1950)、高松・小沢・松永氏法 (1952) 等々の如きアゾ色素法は、本邦では現在未だ行ない難い。

組織化学的証明法には今後尚改良の余地があるとしても、試薬入手も容易で処理の簡単なこと且結果の色調は黒褐色系でなく鮮鋭に區別し得て且褪色せず永久標本となること等の利点から、著者は次に紹介する最近の高松・西氏のアルカリ性 Phosphatase の組織化学的証明法を最良の方法と考える。

著者が全編を通じて応用した高松・西氏法 (1954) を略記紹介する。

#### 〔試薬〕

- 1) 1% β-グリセロ磷酸ソーダ水溶液
- 2) 0.75% 塩化カルシウム水溶液 1000 cc  
+ Palitzsch 氏緩衝液 50 cc (PH=9.1)
- 3) 5% 硝酸銀水溶液
- 4) 中性フォルマリン
- 5) 1000倍乃至2000倍 塩化金水溶液
- 6) 5% チオ硫酸ソーダ水溶液
- 7) ケルンエヒトロート (核後染色用)

(註) 1) Palitzsch 氏緩衝液 (PH=9.1) の製法

N/20 硼砂液 9 + 硼酸液 1  
 19.108 g の硼砂を煮沸  
 (蒸溜水にて 1000 cc と  
 する) 12.404 g 及び塩  
 化ナトリウム 2.925  
 g を煮沸蒸溜水にて  
 1000 cc とする。

## 2) 中性フォルマリンの製法

沈降炭酸カルシウム又は炭酸マグネシアをフォルマリンに多量に加えてその上清を使用する。PH は前者のときは6.8後者のときは7.2となる。

## 〔実験方法〕

新鮮なる組織を直ちに無水アセトン・アルコール等量混合液に入れて固定脱水し、2日間に4~5回新液と交換し、アルコール、キシロールを経て軟パラフィンに包埋して4~10 $\mu$ の切片を作製する。その組織切片を試薬1) 2) の等量混合液に入れて37°Cで20~30時間浸漬する。その後水洗して試薬3) に入れ4) にて還元後5) にて金と置換えしめ6) にて約1分間処理7) にて核染色を施した後、脱水、透徹、封入する。

## 〔結果〕

Phosphatase 反応の陽性部位は深青色乃至紫青色に明らかに染まる。

〔註〕 尚、基質混合液の中から試薬1) を除いて蒸溜水を入れ、同様な処理をなしたものを対照とし、且「ヘマトキシリン・エオジン」重染色を施したものを参考とし、必要により「ワンギーソン」其の他の染色を施して参照する。

#### IV Phosphatase の泌尿性器に於ける分布

泌尿性器に於ける Phosphatase の分布に就ては従来各独自の方法により検索されてきた。即ち、高松(1939), Gomoi (1941) の報告を初め、続いて Kabat, Furth (1941) 武内・馬渡(1943), Zorzoli, Stowell (1947) Montagna, Noback (1947) 等の断片的な報告があり、最近の小沢(1952)の系統的な報告もある。それらの結果は殆んど大同小異で著差を認めない。

人、家兎、海溟、ラッテ等の泌尿性器組織に於けるアルカリ性 Phosphatase の分布に就て、著者がはじめて上述の方法により検索した実験成績は次の如く総括し得る。

1) 腎臓：本反応は皮質に強く現れ、髓質には殆んど現れない。即ち曲細尿管の主部より移行部に至るまでの上皮細胞に強陽性を示し、ヘンレ氏係蹄、中間部、集合管、乳頭管部には陰性である。マルビギー氏小体では血管袂及びボーマン氏嚢は何れも陰性のことが多い。腎盂粘膜上皮は陽性を示す。

2) 膀胱：粘膜移行上皮に本反応は陽性を示し、筋層その他には概ね陰性である。

3) 前立腺：腺上皮に本反応は陽性で、分泌物及び前立腺小体にも弱陽性を示し、間質にも一部反応する

ことがある。殊に周辺部結合組織線維に陽性を示す。

4) 睪丸：精細胞は種々の段階共に陽性を示し、殊に精子に分化するに従つて強さを増すが脚細胞及び固有膜は弱く、間質の反応は僅かであるが毛細血管は明らかに陽性である。

5) 副睪丸：副睪丸管上皮は陰性で間質に弱く反応し内容精子は陽性を示す。輸出管では上皮は陰性、上皮下組織は陽性を示すこと多く筋層も弱陽性を示し、毛細血管は強陽性である。

6) 輸精管：粘膜上皮は陰性であるが粘膜下組織に強陽性を示し、筋層も中等度陽性である。外膜は陰性で精系の血管系は概ね反応が弱い。

7) 精囊：精囊腺上皮及び上皮下固有板には陰性で、筋層の諸所に陽性を示すが、毛細血管は陰性で外膜も反応を示さない。

#### V 分布より見た Phosphatase の泌尿性器に於ける生理学的意義

泌尿性器に於ける Phosphatase の分布状態からそれらの臓器の機能の一面が窺い得られる。即ち武内・馬渡氏(1943)は一側輸尿管を結紮した場合の腎その他の器官の Phosphatase を組織化学的に検索し、結紮しない側の腎に代償性肥大と Phosphatase 反応の増強を認め Phosphatase が尿生成、殊に無機磷の排泄と密接なる関係があることを認め、且無機磷が細尿管主部より排泄せられることを推想しており、又杉本氏(1950)は腎炎、ネフローゼ等による腎機能障害と Phosphatase との関係を研究し、細尿管の変性程度と Phosphatase の減少程度との関連から、細尿管主部上皮に本酵素の局在を推想し、且一側腎の剔除時の他側腎代償性肥大の場合の機能亢進と本酵素の増加の関係を家兎による実験で確めており、高松・Gomori 以来謂われて来た様に、腎の Phosphatase が磷酸塩の排泄と之に伴う体液の酸アルカリ平衡の維持に重要な関連性を有することも肯けるし、又 Bamann (1927, 1928) は糖尿時に腎 Phosphatase の増強することを観察しており、Danielli (1943) の云う細尿管に於ける糖の再吸収に本酵素の関与しているであろうことも肯定できる。故に種々の腎疾患ではその機能障害又は病理学的変化に Phosphatase が敏感に影響を受け、結核症、結石症等では本酵素の減弱していることを小沢(1952)も認めている。

膀胱粘膜に Phosphatase が陽性を示すことは、生物の合目的性から考按して膀胱が単に尿の貯溜と排泄に関与するのみならず尿中磷酸塩と関係がある何等かの機能を有するものであろうと高松・久保氏(1942)

は予想している。

前立腺 Phosphatase に就ては Kutscher, Wörner (1935, 1936) Sullivan (1942) E. B. Gutmann A. B. Gutmann 等により主として生化学的に研究せられ、肥大症又は癌との関係、性ホルモンの関係等が Huggins, Scott, Hodges (1941) 等により詳細に検討されているが、前立腺では酸性 Phosphatase の方がアルカリ性 Phosphatase よりも反応が強く、且前立腺癌特に転移のある時に血清中にその増加することが判明している。精囊 Phosphatase に就ても同様で、泌尿器科領域では前立腺分泌液と共に精液に関する酸性 Phosphatase の研究が盛である。

睪丸及び副睪丸は概ね Phosphatase 反応は弱いが発情期季節になると精細胞に増強することが Wislouchi (1949)により動物で観察されており、精子の機能上受精等に何等かの役割を果すものであらうと考えられる。

## VI 総 括

種々の酵素の中でも Phosphatase は前述の如く特に生体の重要な諸機能に関与することが明かにされて重要視せられ、臨床的にも各科領域で多方面に研究されている。

屢々簡単に Phosphatase と呼ばれるものは、概して Phosphomonoesterase を示しグリセロ磷酸又はフェニール磷酸が一般に基質として用いられ、組織化学的にも主として本酵素が研究対象になっていることが多い。然し Phosphatase が現在尙純粹に抽出されていない関係上、その作用により基質から游離した磷酸を他の物質と結合させ、その反応産物が作用部位に沈着したものを顕微鏡下に見るところの酵素の組織化学的証明の一般原則に従つて検索

されているのである。

組織化学の生命はその最終産物が安定で且鮮明な色彩を有し、非特異的沈着や着色を来さず、又反応の行われた場所以外に移動拡散するのを防ぎ、完成標本は永久標本となる等の条項であるが、この点著者が応用したところの高松西氏法に用いられる金は之等の条件に合致して優れているものといえる。

Phosphatase は他臓器に比して泌尿性器に比較的豊富に含まれ、その生物学的意義に就ては、前述の如く種々の広汎な磷酸塩の代謝に関与しており、殊に腎・前立腺と本酵素との関係は密接で、泌尿器科領域では病態生理学的に特に興味があり、盛に研究せられているのも蓋し当然である

## VII 結 語

1) 著者は泌尿性器疾患に於ける Phosphatase の組織化学的研究に臨み、先ず本酵素に関する一般的要項に就て再検討した。

2) Phosphatase の正常泌尿性器に於ける分布は、従来の方法による所見と大差なかつたが組織化学的検索に種々の点で優れていると思われる最新の高松・西氏法を用い、その優秀性を確認した。

3) 組織化学的所見に基き Phosphatase の泌尿性器に於ける生理学的意義に就て検討した。

4) Phosphatase とその組織化学に関して、全般的に種々の文献的考察を行つた。

(文献後掲)

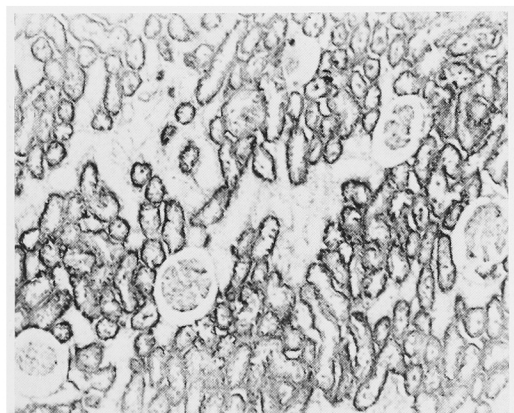


Fig. 1 Normal Kidney (Rat)

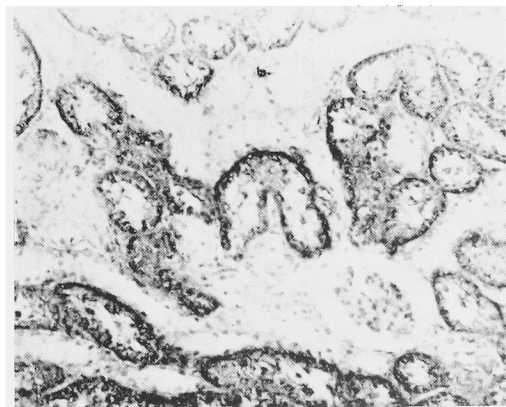


Fig. 2 Normal Kidney (Rat) high magnification

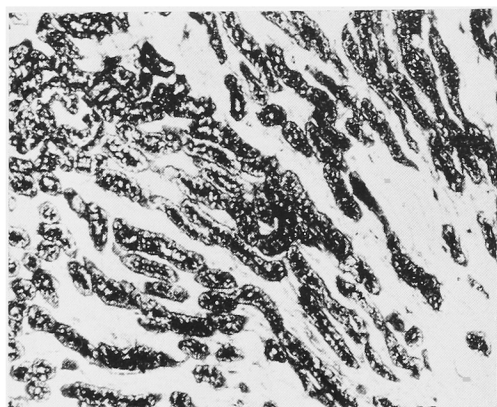


Fig. 3 Normal Kidney (Marmot)

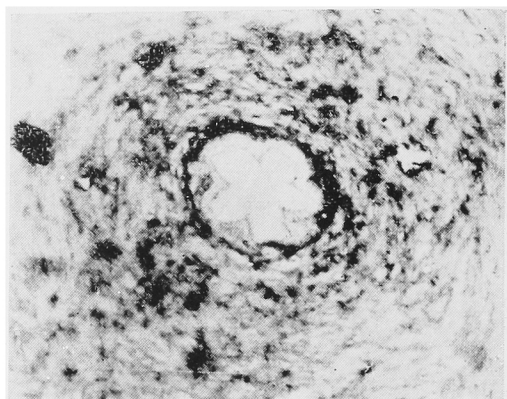


Fig. 6 Normal Spermatic duct (Man)

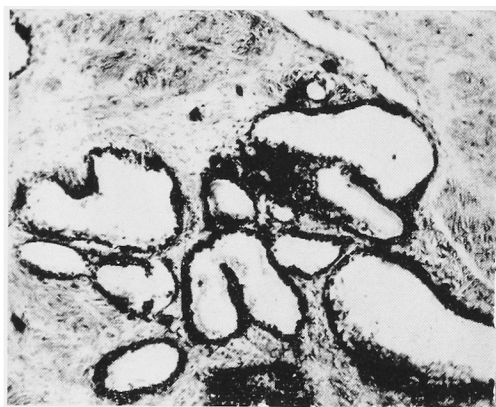


Fig. 4 Normal Prostate (Man)

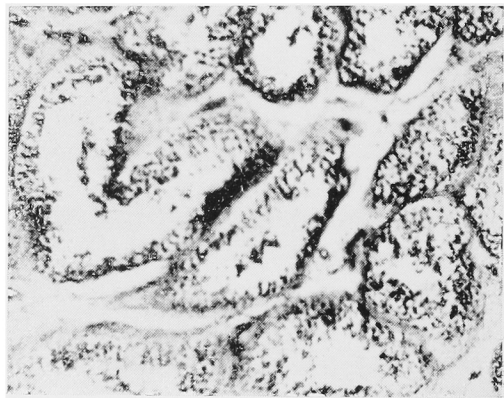


Fig. 7 Normal Testicle (Man)

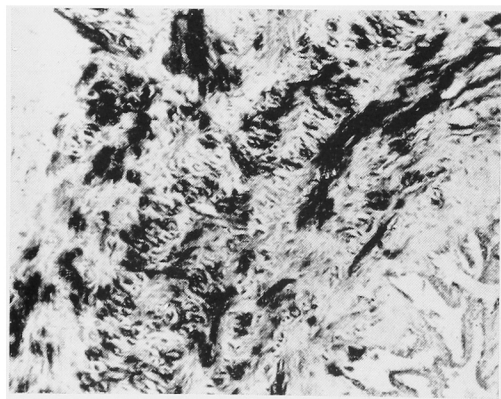


Fig. 5 Normal Spermary (Man)